

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ
НАРОДОВ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

УДК 616.36-002.6-036.22-08-07:356

ЛЯТОС

Игорь Александрович

**КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ, МЕТОДЫ
ДИАГНОСТИКИ**

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Витебск, 2019

Научная работа выполнена в учреждении образования «Витебский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Семенов Валерий Михайлович,**
заслуженный деятель науки Республики Беларусь,
доктор медицинских наук, профессор, заведующий
кафедрой инфекционных болезней учреждения образования
«Витебский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Жаворонок Сергей Владимирович,**
доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры
инфекционных болезней учреждения образования
«Белорусский государственный медицинский
университет»

Мицура Виктор Михайлович,
доктор медицинских наук, доцент, декан медико-
диагностического факультета, учреждения образования
«Гомельский государственный медицинский университет»

Оппонирующая организация: Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 31 мая 2019 года в 11.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.16.01 при учреждении образования «Витебский государственный медицинский университет» по адресу: 210023 г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27а, в конференц-зале административного корпуса университета, e-mail: tulovo22@rambler.ru, тел. +375(212) 60-13-95.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Витебский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «___» апреля 2019 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций
кандидат медицинских наук, доцент

В.В. Поляржин

ВВЕДЕНИЕ

Вирусные гепатиты (ВГ) являются одной из самых актуальных проблем современной медицины. Это определяется как их повсеместным распространением, так и высоким уровнем заболеваемости. Согласно расчетным данным ВОЗ, сотни миллионов человек в мире инфицированы гепатотропными вирусами [Жданов К.В., 2011]. Необходимо отметить, что среди всей инфекционной патологии в Республике Беларусь вирусные гепатиты наносят наибольший экономический ущерб на 1 случай заболевания, а по суммарному экономическому ущербу уступают только ОРИ [Нагорнов И.В., 2011]. Уже в 80-е годы прошлого века Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) включила вирусные гепатиты в перечень наиболее опасных инфекционных заболеваний, для борьбы с которыми требуется объединение усилий служб здравоохранения всего мирового сообщества. По сведениям ВОЗ, смертность от заболеваний печени за последние двадцать лет увеличилась вдвое.

Не менее актуальна проблема парентеральных вирусных гепатитов в Вооруженных Силах Республики Беларусь (ВС РБ). На протяжении последних лет отмечается значительный и стойкий рост увольняемости военнослужащих из рядов ВС РБ с хроническими гепатитами. По данным 432 Главного военного клинического медицинского центра (ГВКМЦ) ежегодно увеличивается количество военнослужащих, признанных негодными к службе в ВС РБ по причине хронического гепатита [Нагорнов И.В., 2010].

Актуальность проблемы парентеральных вирусных гепатитов для ВС определяется высоким уровнем заболеваемости, трудностями ранней диагностики, недостаточностью средств специфической профилактики, дорогостоящим лечением и неблагоприятным исходом. В связи с этим актуальным для Республики Беларусь является разработка высокочувствительных методов диагностики, изучение клинико-эпидемиологических особенностей течения вирусных гепатитов у военнослужащих, совершенствование подходов, направленных на улучшение качества медицинской помощи военнослужащим, и создание системы профилактики.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами

Работа выполнена в рамках темы НИР кафедры инфекционных болезней с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный медицинский университет» «Разработать эффективные методы диагностики, лечения и

профилактики наиболее социально значимых инфекционных заболеваний», номер государственной регистрации 20130899, утвержденной на 2013-2017 годы.

Цель исследования: оценить клинико-эпидемиологические особенности вирусных гепатитов у военнослужащих и совершенствовать систему диагностики и профилактики.

Задачи исследования:

1. Разработать тест-систему для обнаружения ДНК вируса гепатита В методом ПЦР в режиме реального времени, провести клинические испытания, зарегистрировать в Республике Беларусь и организовать промышленный выпуск.
2. Разработать тест-систему для обнаружения РНК вируса гепатита D методом ПЦР в режиме реального времени, провести клинические испытания, зарегистрировать в Республике Беларусь и организовать промышленный выпуск.
3. Разработать тест-систему для обнаружения РНК вируса гепатита С методом ПЦР в режиме реального времени, провести клинические испытания, зарегистрировать в Республике Беларусь и организовать промышленный выпуск.
4. Изучить напряженность иммунного ответа к вирусу гепатита А и Е у военнослужащих Республики Беларусь.
5. Изучить частоту распространения и клиническое течение вирусного гепатита В у военнослужащих Республики Беларусь.
6. Изучить частоту распространения и клиническое течение вирусного гепатита С у военнослужащих Республики Беларусь.
7. Разработать систему диагностики и профилактики вирусных гепатитов у военнослужащих.

Научная новизна

Впервые установлена частота распространения и клиническое течение вирусных гепатитов В и С у военнослужащих Республики Беларусь, что указывает на недостаточную диагностику данных заболеваний у призывников на срочную военную службу.

Впервые установлена напряженность гуморального иммунного ответа к вирусам гепатита А и Е у военнослужащих срочной службы, что указывает на необходимость разработки мероприятий по профилактике распространения указанных заболеваний в воинских коллективах.

Впервые разработаны тест-системы для обнаружения нуклеиновых кислот вирусов гепатитов В, D, С методом ПЦР в режиме реального времени с высокой степенью чувствительности и специфичности.

Впервые предложена схема профилактики вирусных гепатитов в вооруженных силах Республики Беларусь.

Объект исследования:

Военнослужащие срочной службы в возрасте 18-27 лет.

Предмет исследования:

Напряженность иммунного ответа к вирусам гепатита А и Е. Уровень нуклеиновых кислот вирусов гепатитов В, D, С.

Положения, выносимые на защиту

1. У личного состава вооруженных сил Республики Беларусь напряженность иммунного ответа к вирусам гепатитов А и Е остается на низком уровне 12,2% (95% ДИ: 2,1-5,9) и 4% (95% ДИ: 2,1-5,9), соответственно, при этом нет статистически значимых различий в напряженности гуморального иммунного ответа к указанным вирусам среди военнослужащих, призванных из разных областей Республики Беларусь ($p > 0,05$), что вызывает необходимость проведения мероприятий по созданию искусственного активного иммунитета к вирусу гепатита А. С учетом низкой иммунной прослойки среди военнослужащих Республики Беларусь в отношении вирусов гепатитов А и Е основное место среди противоэпидемических мероприятий должна занимать санитарно-гигиеническая обустроенность мест постоянной дислокации войск, особенно мест временной дислокации личного состава (полигоны, полевые лагеря, посты, дозоры, привалы на марше и т.п.), а также санитарно-просветительская работа среди военнослужащих.

2. Созданы оригинальные тест-системы для обнаружения нуклеиновых кислот вирусов гепатитов В, D и С на основе ПЦР в режиме реального времени с высокой чувствительностью и специфичностью, проведена регистрация тест-систем в Республике Беларусь, организован их промышленный выпуск, что соответствует программе импортозамещения и особенно важно при обследовании военнослужащих.

3. В Республике Беларусь имеет место достоверное ($p < 0,05$) снижение инцидентности парентеральных вирусных гепатитов среди военнослужащих срочной службы, причем данная тенденция не коррелирует с общим уровнем заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами в Республике Беларусь. У 1,7% (95% ДИ: 0,35-3,05) военнослужащих Республики Беларусь диагностируется хронический гепатит В, а у 0,85% (95% ДИ: -0,11-0,18) военнослужащих – хронический гепатит С, что указывает на необходимость оптимизации обследования лиц призывного возраста на данные заболевания.

4. Разработана схема обследования военнослужащих с целью своевременной диагностики вирусных гепатитов, что позволяет оптимизировать систему профилактики распространения данных заболеваний

среди личного состава вооруженных сил Республики Беларусь и освидетельствование военнослужащих при выявлении вирусного гепатита.

Личный вклад соискателя ученой степени

Соискателем самостоятельно решены все задачи диссертационного исследования: произведен анализ научных публикаций по теме исследования и написан литературный обзор, собран клинический материал, разработана база данных, выполнена лабораторная часть исследования, произведена статистическая обработка его результатов, написана текстовая часть диссертации, сформулированы выводы и положения, выносимые на защиту.

Планирование исследования, включая формулирование его цели, задач, определение размера и свойств исследуемой выборки пациентов и контрольной группы, используемых лабораторных методов и методов статистической обработки, а также написание статей и публикация результатов исследования, были выполнены под руководством и при непосредственном участии научного руководителя.

Материалы по разработке тест-систем, проведению клинических испытаний отражены в публикациях [2, 3, 8, 11, 12], вклад 50%. Анализ напряженности гуморального иммунного ответа к вирусам гепатита А и Е у военнослужащих Республики Беларусь изложен в публикациях [1, 4, 9, 12], вклад соискателя – 75%. Оценка частоты хронических гепатитов В и С у военнослужащих Республики Беларусь изложена в публикациях [2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 12], вклад – 80%.

Материалы, посвященные созданию системы профилактики распространения гепатитов в вооруженных силах Республики Беларусь, изложены в публикациях [3, 4, 5, 6, 12], вклад соискателя ученой степени кандидата медицинских наук – 90%.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты выполненного научного исследования и основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на ежегодных научных сессиях сотрудников Витебского государственного медицинского университета (2014-2017 гг.), на третьем Конгрессе Евро-Азиатского Общества по инфекционным болезням в г. Екатеринбурге (Россия) 21-23 мая 2014 г., на шестом Съезде инфекционистов Республики Беларусь, прошедшем в г. Витебске 29-30 мая 2014 г.; в ходе работы третьей, четвертой и пятой Школ по инфектологии (республиканская научно-практическая конференция с международным участием, проходившая на базе УО «ВГМУ» в мае 2016, 2017, 2018 гг.), на научно-практической конференции с международным участием «Современная инфектология: новые подходы к лечению кишечных, вирусных и

паразитарных болезней», прошедшей в г. Ургенч (Узбекистан) 9-10 июня 2016 г.

По материалам диссертационной работы Министерством обороны Республики Беларусь утверждены методические рекомендации «Вирусные гепатиты А, Е, В, Д, С у военнослужащих: клинико-эпидемиологические особенности, методы диагностики, лечения и профилактики».

Разработаны и утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь технические условия на производство тест-систем «Тест-система для обнаружения и количественного определения ДНК вируса гепатита В (HBV) в сыворотке крови методом real-time PCR» (ТУ БУ, № 391360704.002–2015; № ИМ–7.103586), «Тест-система для обнаружения и количественного определения РНК вируса гепатита D (HDV) в сыворотке крови методом real-time PCR» (ТУ БУ, № 391360704.012–2015; № ИМ–7.103590), «Тест-система для обнаружения и количественного определения РНК вируса гепатита С (HCV) в сыворотке крови методом real-time PCR» (ТУ БУ, № 391360704.003–2015; № ИМ–7.103589).

Организовано промышленное производство разработанных тест-систем в НПП «Сивитал» (г.Витебск).

Имеется 2 акта о внедрении результатов исследования в учебный процесс на кафедрах инфекционных болезней и микробиологии учреждения образования «Витебский государственный медицинский университет».

Опубликованность результатов диссертации

По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 4 статей в рецензируемых журналах, соответствующих требованиям ВАК, общим объемом 2,3 авторских листа, 7 статей в сборниках научных трудов и материалов конференций и 1 методические рекомендации. Общий объем публикаций по теме диссертационной работы составляет 8,35 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, главы, посвященной описанию материалов и методов исследования, 3 глав результатов собственных исследований, заключения и библиографического списка, включающего русскоязычные и иностранные источники, а также список публикаций автора.

Работа изложена на 121 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 15 таблицами (занимаемый объём – 7 страниц) и 15 рисунками (занимаемый объём – 7 страниц), а также 5 приложениями (занимаемый объём – 8 страниц). Объем, занимаемый библиографическим списком – 18 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Проведенное нами клиническое исследование является проспективным (правила включения в опытные группы формировались до начала сбора данных, накопление и анализ проб выполнялся по мере прибытия военнослужащих в воинское подразделение), основанном на наблюдении (военнослужащие обследовались после выявления маркеров вирусных гепатитов согласно утвержденному протоколу). Исследование строилось согласно действующим международным рекомендациям и стандартам доказательной медицины.

Для решения поставленных задач были обследованы военнослужащие разных периодов службы, проживающие до призыва в армию во всех областях Республики Беларусь: 180 – на наличие в крови антител к вирусу гепатита А, 425 - на наличие в крови антител к вирусу гепатита Е, -355 - на наличие в крови антител к вирусу гепатита С, 353 - на наличие в крови HBsAg. При выявлении HBsAg военнослужащие обследовались на наличие в крови ДНК вируса гепатита В и РНК вируса гепатита D, а при выявлении антител к вирусу гепатита С – на наличие РНК вируса методом ПЦР анализа с флюоресцентной детекцией.

Для определения в сыворотках крови антител к вирусу гепатита С, HBsAg использовали наборы научно-производственного объединения «Диагностические системы» (г. Нижний Новгород, Российская Федерация).

Для определения в сыворотках крови антител к вирусам гепатитов Е и А использовали наборы закрытого акционерного общества "Вектор - Бест" (г.Новосибирск, Российская Федерация).

Статистическую обработку полученных результатов исследования проводили в соответствии с требованиями, предъявляемыми к проведению медико-биологических исследований, при этом качественные показатели представлены абсолютными и относительными величинами. Проверку распределения на нормальность количественных признаков осуществляли по критериям Лиллиефорса и Шапиро-Уилка. Количественные признаки, подчиняющиеся нормальному закону распределения, в работе представлены в виде среднего значения (M), стандартного отклонения (SD), стандартной ошибки среднего (SE), минимального и максимального значения (min, max).

В случаях, когда количественные признаки не подчинялись нормальному закону распределения, представлены нами в виде медианы (Me), интерквартильного диапазона (LQ/UQ), минимального и максимального значений (min, max). Сравнение двух групп по количественным признакам, имеющим равные генеральные дисперсии и соответствующие нормальному закону распределения, нами проводилось по критерию Стьюдента, при этом

условие равенства проверяли по критериям Левена, Фишера. Сравнение двух групп по количественным признакам, не соответствующим нормальному закону распределения, проводили по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Сравнение групп по качественным порядковым признакам проводили по критерию Манна-Уитни, качественным номинальным – по критерию хи-квадрат (χ^2) Пирсона. Для оценки меры связи количественных признаков, подчиняющихся нормальному закону распределения, рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона. В случаях количественных признаков, не подчиняющихся нормальному закону распределения и качественным порядковым признакам, определяли ранговый коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты собственных исследований

Напряженность иммунного ответа к вирусам гепатитов А и Е у военнослужащих

Напряженность иммунного ответа к вирусам гепатитов А и Е у личного состава вооруженных сил Республики Беларусь остается на низком уровне 12,2% (95% ДИ: 7,44-17,01) и 4% (95% ДИ: 2,1-5,9), соответственно. Статистический анализ с применением критерия Chi-square с поправкой Йетса не позволил выявить статистической значимости различий в напряженности гуморального иммунного ответа к вирусам гепатитов А и Е среди военнослужащих, призванных из разных областей Республики Беларусь ($p>0,05$). На уровень заболеваемости гепатитами А и Е среди призывников на военную службу не влияли такие факторы, как проживание в сельской местности и пользование нецентрализованным водоснабжением (таблицы 1, 2).

Таблица 1 – Частота обнаружения антител к вирусу гепатита А у военнослужащих с конкретизацией проживания в городах или сельской местности

Области Республики Беларусь	Количество обследованных военнослужащих	Процент выявления антител	Проживают в сельской местности	Проживают в городах
Витебская	34	14,71% 95% ДИ:5,2-40,2	29,4% 95% ДИ:0-86,2	11,76% 95% ДИ:0,9-22,9
Минская	49	8,16% 95% ДИ:2,0-34,3	8,16% 95% ДИ:0,5-15,8	0
Могилевская	87	11,5% 95% ДИ:24,7-66,2	8,05% 95% ДИ:2,3-13,8	3,45% 95% ДИ:0-7,3

С учетом низкой прослойки личного состава вооруженных сил Республики Беларусь, имеющих иммунитет к вирусу гепатита А, необходимо проведение мероприятий по созданию искусственного активного иммунитета к вирусу, включение вакцинации против гепатита А в плановые программы иммунизации военнослужащих в контексте полного набора имеющихся подходов к системе иммунизации.

Таблица 2 - Частота обнаружения антител к вирусу гепатита Е у военнослужащих с конкретизацией проживания в городах или сельской местности

Области Республики Беларусь	Количество обследованных военнослужащих	Процент выявления антител	Проживают в сельской местности	Проживают в городах
Витебская	97	4,12% 95% ДИ:0,2-8,1	4,12% 95% ДИ:0,2-8,1	0
Минская	128	3,91% 95% ДИ:0,6-7,3	2,34% 95% ДИ:0-5,0	1,56% 95% ДИ:0-3,71
Могилевская	182	4,4% 95% ДИ:1,4-7,4	1,65% 95% ДИ:0-3,5	2,75% 95% ДИ:0,4-5,1

Учитывая низкую прослойку среди личного состава вооруженных сил Республики Беларусь, имеющую иммунитет к вирусам гепатитов А и Е, основное место среди противоэпидемических мероприятий должна занимать санитарно-гигиеническая обустроенность мест постоянной дислокации войск, особенно важное значение имеют места временной дислокации личного состава (полигоны, полевые лагеря, посты, дозоры, привалы на марше и т.п.), при этом надежная изоляция и дезинфекция отхожих мест приобретает особенно важное значение. Установленные клинико-эпидемиологические особенности гепатитов А и Е позволяют рекомендовать включение комплекса серологических исследований для оценки напряженности иммунного ответа не только при эпидемиологическом расследовании в случаях вспышечной заболеваемости гепатитами неустановленной этиологии, но и для применения целевой программы профилактики распространения данных гепатитов среди личного состава вооруженных сил, создания либо пассивного, либо активного иммунитета к вирусам.

Разработка и клиническая апробация тест-систем для выявления нуклеиновых кислот вирусов гепатитов В, D и С

С целью создания тест-систем осуществляли поиск геномов искоемых возбудителей и нуклеотидных последовательностей их генов - в базе данных GenBank Национального Центра Биотехнологической Информации США (GenBank NCBI USA) [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>]. Поиск нуклеотидных последовательностей, гомологичных заданной, осуществляли методом глобального попарного выравнивания (global pairwise alignment) с помощью программ Clustal Omega и Ugene. Подбор оптимальных праймеров и зондов проводили с учетом размера (длины) ампликона, температуры отжига, нуклеотидного состава, распределения нуклеотидов по длине праймера, длины праймеров, возможности образования праймерами шпилек и димеров с помощью программ Primer-BLAST / Primer3, FastPCR. Проводили проверку выбранных последовательностей праймеров на специфичность отжига. Поскольку праймеры, даже абсолютно уникальные для тех или иных последовательностей ДНК, могут отжигаться и на неспецифичных участках, не относящихся к анализируемому гену, на данном этапе выполняли проверку соответствия праймеров последовательностям целевого гена. Для этой цели использовали on-line сервис NCBI Primer BLAST [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>], и оценивали локальное попарное выравнивание каждого из праймеров со всеми нуклеотидными последовательностями баз данных Refseq и nr.

Для выделения ДНК и РНК использовали колоночный метод, основанный на использовании для лизиса клеток сильного хаотропного агента – гуанидина изотиоцианата (GuSCN) высокой молярности (5M) с последующей сорбцией ДНК на силиконовой мембране. После отмывок в пробе остается ДНК, сорбированная на носителе, с которого она легко снимается с помощью элюирующего буфера. Метод удобен и технологичен для подготовки образца к амплификации.

В результате проведенных исследований были созданы тест-системы для обнаружения ДНК вируса гепатита В методом ПЦР в режиме реального времени, РНК вирусов гепатита D и С методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

Тест-система для обнаружения ДНК вируса гепатита В методом ПЦР в режиме реального времени имеет аналитическую чувствительность ≥ 5 копий за пробег при синтетической ДНК ВГВ, в плазме крови 78 МЕ/мл. При этом линейный диапазон при синтетической ДНК 9 логарифмов, при исследовании плазмы крови - 6 логарифмов. Аналитическая специфичность созданной тест-системы - 100%, диагностическая специфичность – 100%.

Созданная тест-система для обнаружения РНК вируса гепатита D методом ОТ ПЦР в режиме реального времени имеет аналитическую чувствительность ≥ 10 копий за пробег при синтетической РНК ВГD, в плазме крови с ВГD 50 МЕ/мл. Линейный диапазон при синтетической РНК вируса гепатита D - 9 логарифмов. Аналитическая специфичность созданной тест-системы - 100%, диагностическая специфичность – 100%.

Созданная тест-система для обнаружения РНК вируса гепатита C методом ОТ ПЦР в режиме реального времени имеет аналитическую чувствительность ≥ 5 копий за пробег при синтетической РНК ВГC, в плазме крови с ВГC 50 МЕ/мл. Линейный диапазон при синтетической РНК вируса гепатита C - > 8 логарифмов. Аналитическая специфичность созданной тест-системы - 100%, диагностическая специфичность – 100%.

Разработанные тест-системы для качественного и количественного определения ДНК вируса гепатита B, РНК вируса гепатита D, РНК вируса гепатита C анализировались на специфичность и чувствительность в ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии», УЗ «Витебский областной центр гигиены и эпидемиологии», в лаборатории молекулярно-генетических и биотехнологических исследований УО «Витебский государственный медицинский университет».

Частота и клинические особенности гепатитов В и С у военнослужащих

В результате проведенных нами исследований установлено, что парентеральные вирусные гепатиты в период с 2007 по 2013 год чаще всего регистрировались в первый период (первые шесть месяцев военной службы) (60,5%).

Анализ показал достоверное ($p < 0,05$) снижение инцидентности парентеральных вирусных гепатитов среди военнослужащих срочной службы (рисунок 1) в период с 2007 по 2013 год, при этом данная тенденция не коррелирует с общим уровнем заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами в Республике Беларусь. Озабоченность вызывает и то, что нами не было установлено достоверного снижения случаев парентеральных вирусных гепатитов в последнем периоде военной службы. В связи с этим нами проведено клинико-лабораторное исследование по оценке частоты гепатитов В и С у военнослужащих.

У 1,7% (95% ДИ: 0,35-3,05) военнослужащих Республики Беларусь диагностируется хронический гепатит В. Чаще хронический гепатит В выявляется у военнослужащих, призванных на службу из Могилевской области – 2,47% (95% ДИ: 0,08-4,86). Не установлено достоверных различий в частоте хронического гепатита В среди военнослужащих, проживавших до призыва на

военную службу в городах и сельской местности 59,8 % и 40,2 %, соответственно.

Клинически установленный у военнослужащих хронический гепатит В протекал с низкой активностью, без признаков фиброза, с небольшой вирусной нагрузкой. При этом вирусная нагрузка регистрировалась от 850 до 120000 копий в 1 мкл.

Следующим этапом нашего исследования был анализ инфицированности вирусом гепатита В военнослужащих срочной военной службы отслуживших, в армии полтора года.

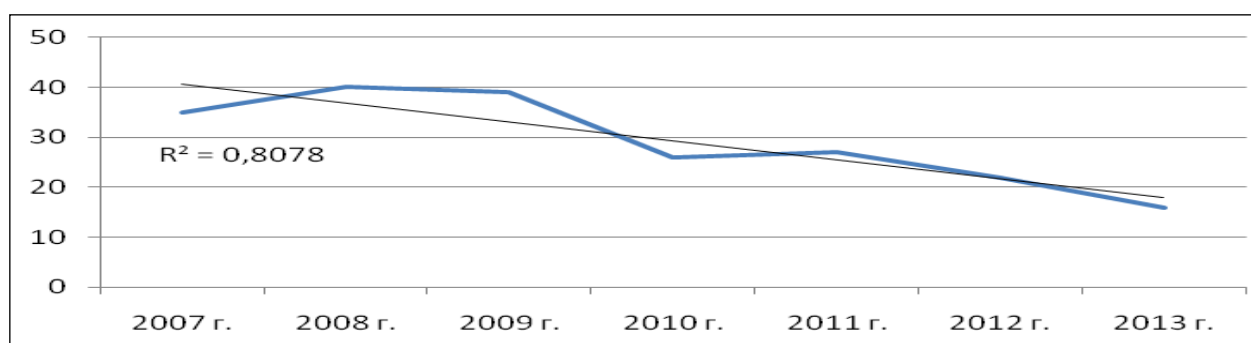


Рисунок 1 – Инцидентность парентеральных вирусных гепатитов у военнослужащих срочной службы

Была отобрана группа военнослужащих в количестве 54 человек, не имеющих в анамнезе хронических заболеваний. Проведенное обследование указанной группы военнослужащих показало наличие у 2 военнослужащих HBsAg, что составило 3,7% (95% ДИ: 1,33-8,74) от всей группы. У данных военнослужащих был диагностирован хронический гепатит В, минимальной активности, F0, с вирусной нагрузкой 198320 и 756350 копий в 1 мкл.

У 0,85% (95% ДИ: -0,11-0,18) военнослужащих был диагностирован хронический гепатит С, минимальной активности, с вирусной нагрузкой от 350 до 1576140 копий в 1 мкл.

С целью предотвращения распространения парентеральных вирусных гепатитов в вооруженных силах необходимо оптимизировать систему обследования на гепатиты лиц при первоначальной постановке на воинский учет и призыве на военную службу. В плане профилактики распространения парентеральных вирусных гепатитов имеет существенное значение санитарно-просветительная работа в воинских подразделениях с акцентом на вопросы передачи гемоконтактных вирусных инфекций, а также совершенствование диспансерного наблюдения и военно-врачебной экспертизы при хронических вирусных гепатитах у военнослужащих.

Система профилактики распространения вирусных гепатитов в воинских коллективах

Система профилактики вирусных гепатитов в воинских коллективах в обязательном порядке включает в себя профилактические и лечебные мероприятия, направленные на недопущение заноса инфекции в воинские коллективы, заключающиеся в активном раннем выявлении пациентов с вирусными гепатитами, установление факторов повышенного риска возникновения заболеваний путем проведения регулярных медицинских обследований и осмотров, в ходе повседневного медицинского наблюдения, изучение условий военной службы и быта военнослужащих. Исходя из этого, нами и разработана схема профилактики распространения вирусных гепатитов в воинских коллективах, основанная в том числе и на своевременном проведении лабораторных исследований (рисунок 3).

В системе профилактики распространения гепатита А среди военнослужащих важное значение имеет своевременное проведение серологического обследования военнослужащих, результаты которого, с одной стороны, определяют целесообразность проведения иммунизации среди личного состава воинского подразделения, а с другой, оптимизируют эпидемиологическое расследование (рисунок 2).



Рисунок 2 – Схема мероприятий по профилактике распространения гепатита А в воинских подразделениях

С целью профилактики распространения гепатита Е среди военнослужащих принципиально важными являются мероприятия, направленные на недопущение заноса инфекции в воинские коллективы, заключающиеся в активном раннем выявлении пациентов с вирусным гепатитом Е, в установлении факторов повышенного риска возникновения заболевания путем проведения регулярных медицинских обследований и осмотров, в ходе повседневного медицинского наблюдения, в изучении условий военной службы и быта военнослужащих и проведении исследований по обнаружению антител к вирусу гепатита Е.

Для предотвращения распространения гепатита В среди военнослужащих важным аспектом является своевременное обследование на наличие HBsAg, проведение ПЦР исследования на наличие в крови ДНК вируса гепатита В с определением концентрации нуклеиновой кислоты вируса, что в конечном счете и определяет необходимость проведения обследования всего личного состава воинского подразделения на наличие маркеров гепатита В.

В программе профилактики распространения гепатита С среди военнослужащих важное значение имеет своевременное обследование на наличие в крови антител к вирусу и проведение молекулярно-генетических исследований по обнаружению в крови РНК вируса гепатита С.

Разработанная схема обследования военнослужащих на вирусные гепатиты помогает в системе медицинского освидетельствования военнослужащих при выявлении вирусного гепатита.

В системе профилактики распространения вирусных гепатитов, значимыми являются мероприятия, направленные на улучшение условий военной службы и быта, проведение среди военнослужащих пропаганды медицинских и гигиенических знаний, здорового образа жизни, систематический анализ состояния здоровья военнослужащих.

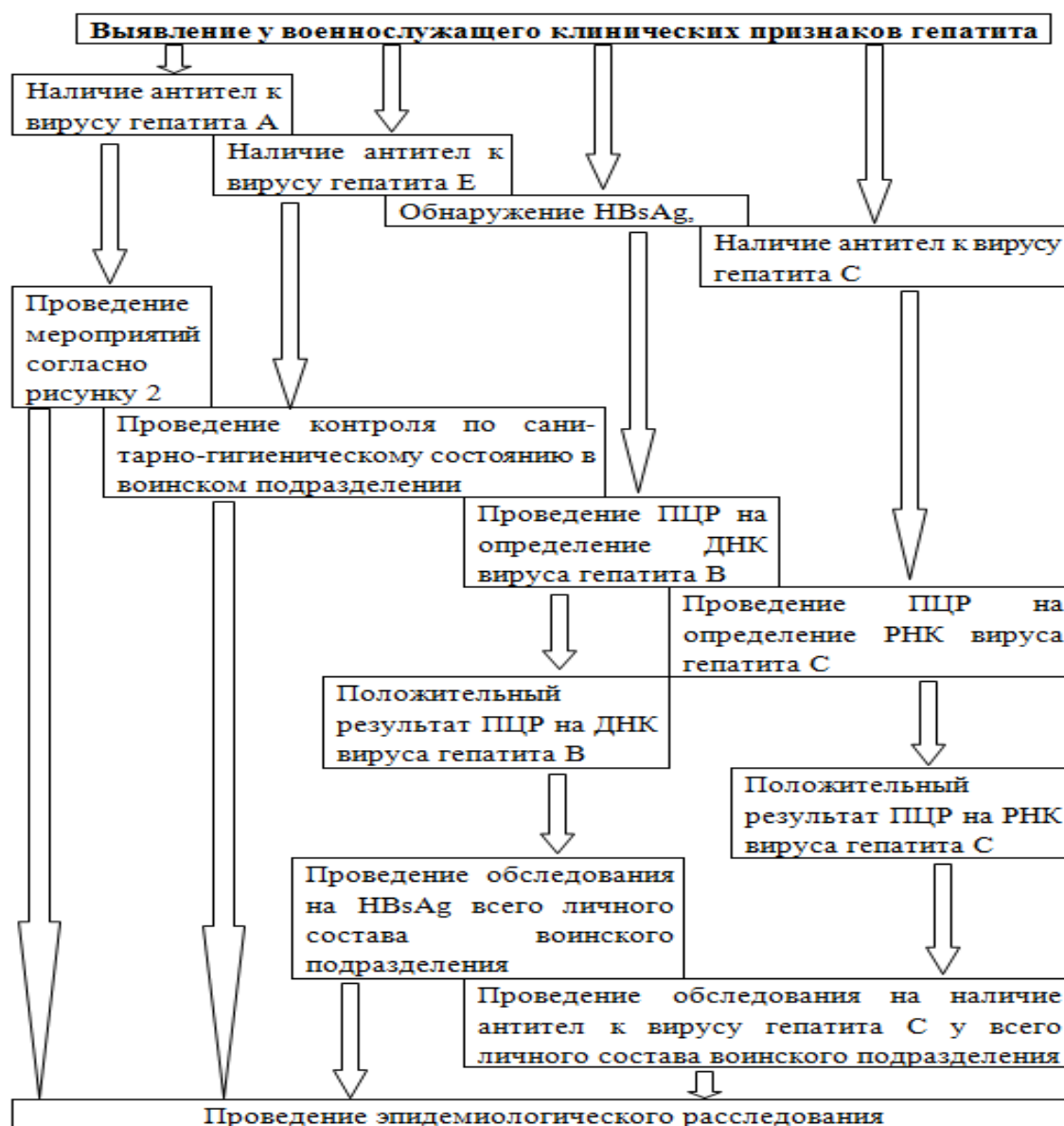


Рисунок 3 – Схема обследования военнослужащих на вирусные гепатиты

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

Совокупность полученных результатов при выполнении диссертационной работы позволяет сделать следующие основные выводы:

1. Впервые установлено, что у личного состава вооруженных сил Республики Беларусь напряженность иммунного ответа к вирусам гепатитов А и Е остается на низком уровне 12,2% (95% ДИ: 2,1-5,9) и 4% (95% ДИ: 2,1-5,9) соответственно, при этом нет статистически значимых различий в напряженности гуморального иммунного ответа к указанным вирусам среди военнослужащих, призванных из разных областей Республики Беларусь ($p > 0,05$). С учетом низкой прослойки личного состава вооруженных сил

Республики Беларусь, имеющих иммунитет к вирусу гепатита А, необходимо проведение мероприятий по созданию искусственного активного иммунитета к вирусу, включение вакцинации против гепатита А в плановые программы иммунизации военнослужащих в контексте полного набора имеющихся подходов в системе иммунизации, при этом основное место среди противоэпидемических мероприятий должна занимать санитарно-гигиеническая обустроенность мест постоянной дислокации войск, особенно мест временной дислокации личного состава (полигоны, полевые лагеря, посты, дозоры, привалы на марше и т.п.). Учитывая низкую иммунную прослойку среди военнослужащих Республики Беларусь в отношении вирусов гепатитов А и Е, с целью профилактики распространения данных инфекций, необходимо проводить санитарно-просветительскую работу среди военнослужащих [1, 4, 9, 12].

2. Создана оригинальная тест-система для обнаружения ДНК вируса гепатита В методом ПЦР в режиме реального времени с аналитической чувствительностью ≥ 5 копий за пробег при синтетической ДНК ВГВ и в плазме крови 78 МЕ/мл при обнаружении ДНК вируса. При этом клиническая апробация созданной тест-системы позволила установить, что аналитическая и диагностическая специфичность составляет 100%. Организован промышленный выпуск созданной тест-системы в Республике Беларусь, что соответствует программе импортозамещения и особенно важно при обследовании военнослужащих [2, 3, 8, 12].

3. Создана оригинальная тест-система для обнаружения РНК вируса гепатита D методом ПЦР в режиме реального времени с аналитической чувствительностью ≥ 10 копий за пробег при синтетической РНК ВГD и 50 МЕ/мл в плазме крови с вирусом гепатита D. Клинические испытания созданной тест-системы показали, что аналитическая и диагностическая специфичность составляет 100%. Организован промышленный выпуск созданной тест-системы в Республике Беларусь, что соответствует программе импортозамещения и особенно важно при обследовании военнослужащих [2, 12].

4. Создана оригинальная тест-система для обнаружения РНК вируса гепатита С методом ПЦР в режиме реального времени, при этом аналитическая чувствительность созданной тест-системы ≥ 5 копий за пробег при синтетической РНК ВГС и 50 МЕ/мл в плазме крови с вирусом гепатита С. Аналитическая и диагностическая специфичность созданной тест-системы составляет 100%. Организован промышленный выпуск созданной тест-системы в Республике Беларусь, что соответствует программе импортозамещения и особенно важно при обследовании военнослужащих [2, 3, 11, 12].

5. Впервые показано, что в Республике Беларусь имеет место достоверное ($p < 0,05$) снижение инцидентности парентеральных вирусных гепатитов среди военнослужащих срочной службы, причем данная тенденция не коррелирует с общим уровнем заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами в Республике Беларусь. При этом у 1,7% (95% ДИ: 0,35-3,05) военнослужащих Республики Беларусь диагностируется хронический гепатит В, а у 0,85% (95% ДИ: -0,11-0,18) военнослужащих – хронический гепатит С [2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 12].

6. Предложена схема обследования военнослужащих для своевременной диагностики вирусных гепатитов, что оптимизирует систему профилактики распространения данных заболеваний среди личного состава вооруженных сил Республики Беларусь и освидетельствование военнослужащих при выявлении вирусного гепатита [3, 4, 5, 6, 12].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Созданные тест-системы на основе ПЦР в режиме реального времени с целью качественного и количественного обнаружения нуклеиновых кислот вирусов гепатитов В, D и С, регистрация их в Республике Беларусь и организация промышленного производства создают условия для широкого применения отечественных диагностических наборов как в клинической практике, так и при обследовании военнослужащих, что, с одной стороны, соответствует программе импортозамещения, а с другой, сокращает расходы на проведение лабораторного обследования.

Разработанная схема обследования военнослужащих с целью диагностики вирусных гепатитов может быть использована при разработке нормативных документов по профилактике распространения вирусных гепатитов среди личного состава вооруженных сил Республики Беларусь.

Результаты исследования по напряженности гуморального иммунного ответа к вирусам гепатитов А и Е, частоте хронических гепатитов В и С у военнослужащих могут быть использованы при оптимизации мер по профилактике распространения вирусных гепатитов среди личного состава вооруженных сил Республики Беларусь, а также в учебном процессе при подготовке врачей на военно-медицинском факультете по специальности «Военно-медицинское дело», а также на лечебных факультетах медицинских университетов Республики.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в рецензируемых научных журналах, соответствующих требованиям ВАК

1. Лятос, И.А. Распространенность вирусного гепатита Е в воинских коллективах / И.А. Лятос, В.М. Семенов // Военная медицина. – 2017. – № 2. – С. 75–76.

2. Лятос, И.А. Эффективность диспансеризации пациентов с хроническими парентеральными вирусными гепатитами в Витебской области / И.А. Лятос, Ю.Г. Юпатов, В.М. Семенов, Т.И. Дмитраченко, Е.И. Шахорская, О.А. Дубовец, Е.В. Стычневская // Клиническая инфектология и паразитология. – 2017. – Т. 6. – № 2. – С. 208–216.

3. Лятос, И.А. Парентеральные вирусные гепатиты в Вооруженных силах Республики Беларусь (состояние проблемы выявления военнослужащих, инфицированных вирусом гепатитов В и С) / И.А. Лятос, В.М. Семенов, Т.И. Дмитраченко, Ю.Г. Юпатов, В.В. Редненко // Вес. Вит. гос. мед. ун-та. – 2017 – Т. 16. – № 3. – С. 7–19.

4. Лятос, И.А. Распространенность вирусных гепатитов А и Е в Республики Беларусь / И.А. Лятос, В.М. Семенов // Клиническая инфектология и паразитология. – 2018. – Т. 7. – № 1. – С. 76–79.

Статьи в сборниках научных трудов и материалах конференций

5. Лятос, И.А. Хронические вирусные гепатиты у военнослужащих срочной военной службы / И.А. Лятос // Этих дней не смолкнет слава: материалы Респ. студ. военно-науч. конф., Гродно, 24 апр. 2014 г. / Грод. гос. мед. ун-т; редкол.: В.А. Снежицкий [и др.]. – Гродно, 2014. – С.109–113.

6. Лятос, И.А. Парентеральные вирусные гепатиты у военнослужащих / И.А. Лятос // 6-й съезд инфекционистов Республики Беларусь: сб. матер. съезда / Вит. гос. мед. ун-т; под ред. В.П. Дейкало. – Витебск, 2014. – С. 107–108.

7. Лятос, И.А. Состояние проблемы выявления военнослужащих, инфицированных вирусами гепатита В и С в Республике Беларусь / И.А. Лятос // Многопрофильная клиника XXI века. Экстремальная медицина: материалы междунар. науч. форума, Санкт-Петербург, 9–11 апр. 2015 г. / ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова, МЧС России; редкол.: С.С. Алексанина [и др.]. – Санкт-Петербург, 2015. – С. 175–176.

8. Лятос, И.А. Парентеральные вирусные гепатиты в вооруженных силах Республики Беларусь / И.А. Лятос, В.М. Семенов, А.В. Редненко // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 71-й науч. сессии сотруд. ун-та, Витебск, 27–28 янв. 2016 г. / Вит. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2016. – С. 50–51.

9. Лятос, И.А. Заболеваемость вирусными гепатитами у военнослужащих срочной службы / И.А. Лятос // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 72-й науч. сессии сотруд. ун-та, Витебск, 25–26 янв. 2017 г. / Вит. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2017. – С. 88–89.

10. Лятос, И.А. Вирусный гепатит С в Витебской области 2008 – 2016 гг. / И.А. Лятос, Ю.Г. Юпатов, В.М. Семенов, Т.И. Дмитраченко // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 72-й науч. сессии сотруд. ун-та, Витебск, 25–26 янв. 2017 г. / Вит. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2017. – С. 105–106.

11. Лятос, И.А. Разработка тест-системы для диагностики вирусного гепатита С методом ПЦР в режиме реального времени / И.А. Лятос, В.М. Семенов, Т.И. Дмитраченко, Ю.Г. Юпатов // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 73-й науч. сессии сотруд. ун-та, Витебск, 29–30 янв. 2018 г. / Вит. гос. мед. ун-т; редкол.: А.Т. Щастный [и др.]. – Витебск, 2018. – С. 122–124.

Методические рекомендации

12. Лятос, И.А. Вирусные гепатиты А, Е, В, Д, С у военнослужащих: клинико-эпидемиологические особенности, методы диагностики, лечения и профилактики: метод. рекомендации / А.И. Лятос, В.М. Семенов, Т.И. Дмитраченко; под ред. В.М. Семенова. – Витебск: Изд-во ВГМУ, 2018. – 82 с.

РЭЗІЮМЭ

Лятас Ігар Аляксандравіч

Клініка-эпідэміялагічныя асаблівасці вірусных гепатытаў ў вайскоўцаў, метады дыягностыкі

Ключавыя словы: вірусныя гепатыты, вайскоўцы, малекулярна-генетычныя метады, дыягностыка.

Мэта працы: ацаніць клініка-эпідэміялагічныя асаблівасці вірусных гепатытаў ў вайскоўцаў і ўдасканаліваць сістэму дыягностыкі і прафілактыкі.

Метады даследавання: клінічныя, сералагічныя, малекулярна-генетычныя, біяхімічныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навуковая навізна: Ўпершыню ўстаноўлена напружанасць гумаральнага імуннага адказу да вірусаў гепатыту А і Е ў вайскоўцаў тэрміновай службы. З улікам нізкай праслойкі асабістага складу ўзброеных сіл Рэспублікі Беларусь, якія маюць імунітэт да віруса гепатыту А, неабходна правядзенне мерапрыемстваў па стварэнні штучнага актыўнага імунітэту да віруса, уключэнне вакцынацыі супраць гепатыту А ў планавыя праграмы імунізацыі вайскоўцаў у кантэксце поўнага набору наяўных падыходаў у сістэме імунізацыі.

Ўпершыню распрацаваны тэст-сістэмы для выяўлення нуклеінавых кіслот вірусаў гепатытаў В, D, С метадам ПЦР ў рэжыме рэальнага часу з высокай ступенню адчувальнасці і спецыфічнасці. Ўстаноўлена частата распаўсюджвання і клінічнага працягу вірусных гепатытаў В і С у ваеннаслужачых Рэспублікі Беларусь, што ўказвае на недастатковую дыягностыку гэтых захворванняў у прызыўнікоў на тэрміновую ваенную службу.

Ўпершыню прапанавана схема прафілактыкі вірусных гепатытаў ва ўзброеных сілах Рэспублікі Беларусь, што аптымізуе сістэму прафілактыкі распаўсюджвання даных захворванняў сярод асабістага складу ўзброеных сіл Рэспублікі Беларусь і агляд ваеннаслужачых пры выяўленні віруснага гепатыту.

Выкарыстанне вынікаў: Створаныя тэст-сістэмы на аснове ПЦР з мэтай якаснага і колькаснага выяўлення нуклеінавых кіслот вірусаў гепатытаў В, D і С ствараюць умовы для шырокага прымянення айчынных дыягнастычных набораў як у клінічнай практыцы, так і пры абследаванні ваеннаслужачых.

Распрацаваная схема абследавання вайскоўцаў з мэтай дыягностыкі вірусных гепатытаў можа быць выкарыстана пры распрацоўцы нарматыўных дакументаў па прафілактыцы распаўсюджвання вірусных гепатытаў сярод асабістага складу ўзброеных сіл Рэспублікі Беларусь.

РЕЗЮМЕ

Лятос Игорь Александрович

Клинико-эпидемиологические особенности вирусных гепатитов у военнослужащих, методы диагностики

Ключевые слова: вирусные гепатиты, военнослужащие, молекулярно-генетические методы, диагностика.

Цель работы: оценить клинико-эпидемиологические особенности вирусных гепатитов у военнослужащих и совершенствовать систему диагностики и профилактики.

Методы исследования: клинические, серологические, молекулярно-генетические, биохимические, статистические.

Полученные результаты и их научная новизна: Впервые установлена напряженность гуморального иммунного ответа к вирусам гепатита А и Е у военнослужащих срочной службы. С учетом низкой прослойки личного состава вооруженных сил Республики Беларусь, имеющих иммунитет к вирусу гепатита А, необходимо проведение мероприятий по созданию искусственного активного иммунитета к вирусу, включение вакцинации против гепатита А в плановые программы иммунизации военнослужащих в контексте полного набора имеющихся подходов в системе иммунизации. Впервые разработаны тест-системы для обнаружения нуклеиновых кислот вирусов гепатитов В, D, С методом ПЦР в режиме реального времени с высокой степенью чувствительности и специфичности. Установлена частота распространения и клиническое течение вирусных гепатитов В и С у военнослужащих Республики Беларусь, что указывает на недостаточную диагностику данных заболеваний у призывников на срочную военную службу. Впервые предложена схема профилактики вирусных гепатитов в вооруженных силах Республики Беларусь, что оптимизирует систему профилактики распространения данных заболеваний среди личного состава вооруженных сил Республики Беларусь и освидетельствование военнослужащих при выявлении вирусного гепатита.

Использование результатов: Созданные тест-системы на основе ПЦР с целью качественного и количественного обнаружения нуклеиновых кислот вирусов гепатитов В, D и С, создают условия для широкого применения отечественных диагностических наборов как в клинической практике, так и при обследовании военнослужащих. Разработанная схема обследования военнослужащих с целью диагностики вирусных гепатитов может быть использована при разработке нормативных документов по профилактике распространения вирусных гепатитов среди личного состава вооруженных сил Республики Беларусь.

Область применения: инфектология, эпидемиология.

SUMMARY

Lyatos Ihar Aleksandrovich

Clinical and epidemiological features and diagnostic methods of viral hepatitis in military personnel.

Key words: viral hepatitis, military personnel, molecular genetic methods, diagnostics.

Objective: the aim of the study was to evaluate the clinical and epidemiological features of viral hepatitis in military personnel and to improve the system of diagnostics and prevention.

Research methods: we used clinical, serological, molecular genetic, biochemical, statistical methods.

The results and their scientific novelty: The intensity of the humoral immune response to hepatitis A and E viruses has been established for military personnel for the first time. Taking into account the low amount of personnel in the armed forces of the Republic of Belarus who are immune to the hepatitis A virus, it is necessary to take measures to create artificial active immunity to the virus; to include vaccination against hepatitis A into the programs of planned immunization for military personnel in the state immunization system. Test systems for the detection of nucleic acids of hepatitis B, D, C viruses by real-time PCR with a high degree of sensitivity and specificity have been developed for the first time. The prevalence and the natural history of viral hepatitis B and C among the military personnel of the Republic of Belarus has been found out, what indicates a lack of diagnostics of these diseases among conscripts. A scheme of prevention of viral hepatitis in the armed forces of the Republic of Belarus has been proposed to optimize the system of preventing the spread of these diseases among the personnel of the armed forces of the Republic of Belarus and to examine military personnel with primarily detected viral hepatitis.

The use of results: Developed PCR test systems for qualitative and quantitative detection of nucleic acids of hepatitis B, D and C viruses make conditions for the widespread use of state diagnostic kits both in clinical practice and in the examination of military personnel. The developed scheme of the examination of the military personnel on the diagnosis of viral hepatitis can be used in the composition of the regulatory documents on the prevention of the spread of viral hepatitis among the personnel of the armed forces of the Republic of Belarus.

Scope: infectology, epidemiology.

Научное издание

Лятос Игорь Александрович

**КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ У ВОЕННОСЛУЖАЩИХ, МЕТОДЫ
ДИАГНОСТИКИ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Подписано в печать «____» _____ 2019 г. Формат 60×84 1/16.

Бумага типографская №2. Гарнитура Times. Усл. печ. листов ____

Уч.-изд. л. ____ Тираж 60 экз. Заказ № ____

Издатель и полиграфическое исполнение

УО «Витебский государственный медицинский университет»

ЛП №02330/453 от 30.12.2013 г.

Отпечатано на ризографе в Витебском государственном медицинском
университете.

пр-т Фрунзе, 27, 210602, г. Витебск

Тел. +375 (212) 26-19-66